

Aus der I. Inneren Abteilung d. Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Einwirkung einer Serumfraktion III von Patienten
mit Hypersplenie auf menschliches Knochenmark in vitro.

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Wulf Rieke
aus Hamm

1972

Aus der I. Inneren Abteilung d. Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München
(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Einwirkung einer Serumfraktion III von Patienten
mit Hypersplenie auf menschliches Knochenmark *in vitro*.

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Wulf Rieke
aus Hamm

Referent: Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Baldur Kempfle

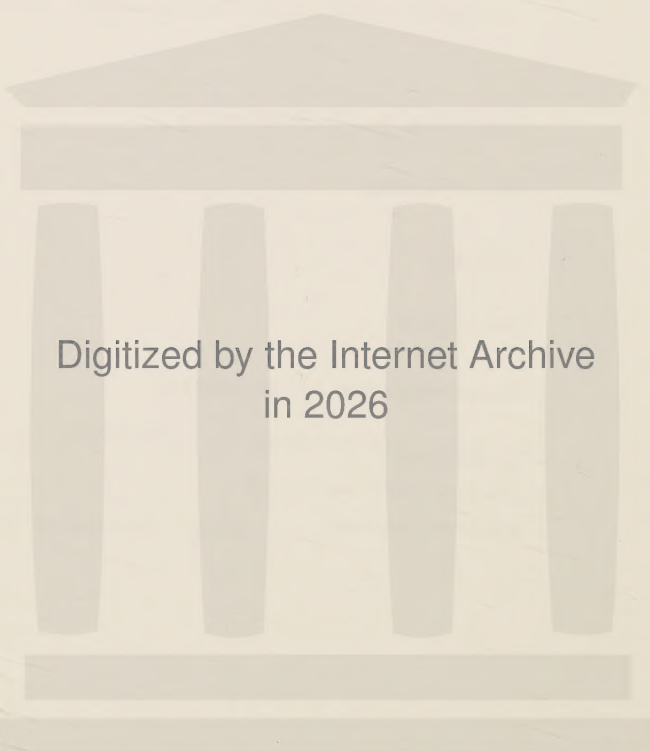
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-,
Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 5.12.1972



INHALT

	Seite
Einführung in die Problematik	1
Fragestellung	4
Methode	6
Ergebnisse	8
Zusammenfassung der Ergebnisse	46
Diskussion	47
Zusammenfassung	49



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINFÜHRUNG IN DIE PROBLEMATIK

Durch zahlreiche experimentelle und klinische Untersuchungen wurde gezeigt, daß die Milz in die autonomen Vorgänge des Organismus einzugreifen vermag. (14,15,20,26,27)

GALEN bereits sprach von der Milz als einem mysteriösen Organ. Eine Wirkung humoraler Art auf das Knochenmark wird heute wieder angezweifelt, insbesondere es nicht gelang, eine derartige Wirksubstanz oder Wirksubstanzgruppe zu isolieren oder zu identifizieren.

ISSAK (16) stellte 1912 die endokrine Funktion der Milz dar, indem er das Auftreten der splenogenen Anämie einer vermehrten inneren Sekretion der Milz und einer daraus resultierenden Knochenmarkfunktionshemmung zuschrieb. FRANK (10) dagegen ordnete 1916 die Milz in den Kreis der innersekretorischen Drüsen ein. Er meinte festzustellen, daß der Einfluß der Milz auf das Knochenmark hormonell sein müßte. Noch RUHENSTROTH-BAUER forderte ein spezielles Hormon der Milz, das regulierend in die Knochenmarktätigkeit eingreift, indem es über die Blutbahn ins Knochenmark gebracht, stimulierend auf die Erythropoese wirkt. Die Darstellung eines solchen Milzhormons ist ihm allerdings nicht gelungen. (22,23,24)

Wenn sich auch heute die Fachkenner aus allen Gebieten der Medizin zu einer nicht humoralen Beeinflussung der Milz zu bekennen scheinen, so fehlen ihnen doch für diese Annahme ebenfalls jegliche Beweise. (19)

V. ALBERT (1,2) untersuchte an Knochenmarkkulturen eiweißfreie Extrakte aus künstlich hypersplenisch gemachten Kälbermilzen und später einen nach speziellem Verfahren hergestellten Extrakt einer menschlichen Hyperspleniemilz. Er wies eine Proliferations- und Reifungshemmung der Granulocytopoese und eine leichte Stimulierung der Erythropoese nach. Der Versuch mit menschlichem Extrakt zeigte stärkere

Wirkung auf die Granulocytopoese, die Erythropoese wurde nicht beeinflußt. In beiden Fällen enthielten die Extrakte einen bzw. mehrere knochenmarkwirksame Substanzen, die in der Kultur einen dem klinischen Bild der splenogenen Markhemmung ähnlichen Zustand bewirkten.

Damit zeigte er, daß Knochenmarkkulturen geeignete Nachweismethoden zur Untersuchung knochenmarkwirksamer Milzfaktoren darstellen, frei von Gegenregulationsmechanismen und unkontrollierbaren anderen Organwirkungen wie die der Leber, der Milz des Versuchstieres usw..

BOLL und Mitarbeiter (7) versuchten auf die Frage, ob das Knochenmark auf die vermehrte Zerstörung der Blutzellen in der Milz reagiert oder ob die Milz das Knochenmark direkt beeinflußt, eine Antwort zu finden, indem sie die Kinetik des Knochenmarks von Patienten mit Milztumoren in der 3-Tage-Kultur beurteilten und mit ihren früher aufgestellten Normwerten (8,9) in Beziehung setzten.

Der Vergleich mit den Normwerten ergab bei den Patienten mit Milztumoren eine Linksverschiebung bei insgesamt vermehrter Erythropoese und in der Granulocytopoese eine erhebliche Rechtsverschiebung mit 32 % Segmentkernigen, den Ergebnissen JOMBRES (17) nach Pfortaderunterbindung bei Kaninchen entsprechend. Die Vermehrung der segmentkernigen Granulocyten wurde im Hinblick auf ihre verminderte Anzahl im peripheren Blut als Ausschwemmungshemmung aufgefaßt, in vitro wurde eine zusätzliche Reifungsverzögerung der Granulocytopoese nachgewiesen.

Die Mitosen waren in beiden Reihen vermindert.

Die Ergebnisse der Proliferationskinetik zeigten in der Erythropoese eine gute Ausreifung wie im normalen Knochenmark, aber bei der Hälfte der untersuchten Fälle keine Verschiebung der Differentialverteilung in den ersten 24 Stunden trotz relativ starker Zunahme der Erythropoese nach dem G/E-Index. Später kam es zur Ausreifung, nicht aber

zum weiteren Anstieg des G/E-Index als Ausdruck der Ausreifung der Erythropoese bis zu den Erythrocyten.

Die Reifungskurven der Granulocytopoese zeigten neben anfänglicher Rechtsverschiebung eine reduzierte Reifungstendenz ähnlich wie Fälle der chronischen Myelose und des Megaloblastenmarks.

Es ergab sich also eine für beide Reihen der Hämatopoese in der Koagulumkultur dargestellte Reifungsstörung bei schon in vivo eingeschränkter Regeneration.

Als Kompensation eines vermehrten Zellunterganges im Milztumor ließ sich die herabgesetzte Proliferation der Erythropoese und Granulocytopoese nicht erklären, denn bei entsprechendem Zellverbrauch in der Peripherie wie chronischem Blutverlust oder Haemolyse in der Erythropoese oder Infekt-leukocytose ergaben sich ganz andere Verhaltensweisen der an diesem Untersuchungsmodell gewonnenen Parameter (8,9). Die Ergebnisse deuteten darauf hin, daß die Fibroadenie der Milz das Knochenmark andersartig beeinflußt.

Eingehende Voruntersuchungen (Diss. Schulz (25)) ließen darauf hoffen, einen Faktor oder eine Wirkgruppe aus dem Serum von Patienten mit hypersplenischen Milzen zu isolieren, die das Knochenmark direkt beeinflussen. Schulz setzte dem Knochenmark verschiedener Patienten gefrorenes und nicht gefrorenes Serum zweier Patienten mit Hypersplenie-milzen zu und stellte in der 3-Tage-Kultur eine sehr deutliche Rechtsverschiebung und Reifungshemmung der Granulocytopoese fest, während die rote Reihe in Übereinstimmung mit v. Albert keine deutliche Beeinflussung zeigte. Das Einfrieren über 4 Wochen änderte die Ergebnisse nicht im geringsten.

FRAGESTELLUNG

Diese Arbeit befaßt sich mit der Aufzeichnung von Veränderungen der Proliferationskinetik an der humanen Knochenmarkkultur, sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulocytopoese nach Zusetzen von Serumfraktionen zweier Patienten mit hypersplenischen Milzen im Vergleich zu Kontrollkulturen ohne Zusatz. (Da die Seren von zwei verschiedenen Patienten gewonnen wurden und jeweils den Teil einer Fraktion darstellen, sollen in der Folge die fraktionierten Zusätze kurz Zusatz D-3 und G-3 genannt werden.) Folgende Fragen sollen dabei geklärt werden:

- 1) In welchem Umfang findet eine Veränderung der Mitosehäufigkeit (m) nach der Zählung des Mitoseindex in der Erythropoese und der Granulocytopoese statt.
- 2) Wie ist die Häufigkeit einzelner Mitosephasen, d.h. ergibt sich eine Verzögerung bzw. Beschleunigung der einzelnen Phasen der Mitosedauer (t_m) durch die Zusätze D-3 und G-3. Dies würde bei der Berechnung der Mitosehäufigkeit (m) auf den Mitoseindex (MI) zu berücksichtigen sein. ($m = \frac{MI}{t_m}$).
- 3) Wie ist die Reifung in vitro nach der Differentialzählung während 72 Std. zu beurteilen.
- 4) Wie ist das relative Verhalten von Granulo- zu Erythropoese, d.h. wird eine der Reihen stärker beeinflusst als die andere.
- 5) Lassen die Veränderungen gegenüber den Normalwerten Rückschlüsse auf eine sich in den Fraktionen D-3 und G-3 befindliche Wirksubstanz oder Wirksubstanzgruppe zu und inwiefern können diese Ergebnisse zur Klärung der Identität knochenmarkwirksamer Milzfaktoren beitragen.

Von den Kulturen mit und ohne Zusatz wurden deshalb:

- 1) die Mitoseindices nach 0, 24, 48 und 72 Std. ermittelt.
Der Mitoseindex ist die Anzahl aller Mitosen, bezogen auf die Gesamtzahl der teilungsfähigen Zellen. (Angabe erfolgt in %). Als teilungsfähig werden angesehen in der Erythropoese: Proerythroblast und alle Erythroblasten mit Ausnahme der Reifen. In der Granulocytopoese: Myeloblast, Promyelocyt, Myelocyt und Metamyelocyt. (Die Mitoseindices sind zur Veranschaulichung neben der gesonderten Tabellierung in den Darstellungen der Reifungskurven (Abb. 2-7) links neben denen der roten Reihe für die roten Mitoseindices (rMI) bzw. rechts neben denen der weißen Reihe für die weißen Mitoseindices (wMI) aufgeführt).
- 2) Reifungskurven der Kulturen bis 72 Std. angefertigt.
(Beim Ausstreichen der Koagulumkulturen und der anschließenden Differenzierung können nur relative Zellverschiebungen festgestellt werden). Rote und weiße Reihe wurden getrennt graphisch dargestellt.
- 3) caryologische Kurven der Mitosephasen nach BOLL (6) aufgestellt (die prozentuale Verteilung der einzelnen Mitosephasen wurde ebenfalls graphisch dargestellt).
(Abb. 8)
- 4) die Anfertigung einer Tabelle der G/E-Indices, die das relative Verhältnis aller weißen zu roten Zellen wiedergeben, vorgenommen. (Zur Veranschaulichung befinden sich die G/E-Indices außerdem zwischen den graphischen Darstellungen der Reifungskurven der einzelnen Fälle).
(Abb. 2-7)

Im Gegensatz zu v. Albert läßt unsere Untersuchung zur besseren Beurteilung eine Unterteilung der Proliferation zu und zwar in eine Regenerationsphase, gemessen am Mitoseindex (MI) und den caryologischen Kurven, und eine Reifungsphase, gemessen am G/E-Index (G/E I) und den Reifungskurven.

METHODE

Die Zusätze D-3 und G-3 entstanden auf folgende Weise:
5 ml Serum (jeweils vom Patienten D und Patienten G)
wurden bei Zimmertemperatur mit 5 ml einer gesättigten
(NH_4)₂SO₄-Lösung versetzt, d.h. eine Halbsättigung mit
Ammoniumsulfat herbeigeführt. Die Fällung kam durch Zu-
tropfenlassen während einer Stunde unter dauerndem
Rühren zustande. Nach einer Wartezeit von 2 Std. wurde
hochtourig abzentrifugiert und in einen Niederschlag und
einen Überstand aufgeteilt. Der Niederschlag ist Gegenstand
einer anderen Untersuchung. Der Überstand wurde dreimal
gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert, gefrierge-
trocknet und stellte nach Auflösen mit der Ausgangsmenge
Aqua bidest. die Zusätze D-3 bzw. G-3 dar. Die Lösungen
hatten einen pH-Wert von 7,2.

Die Gewinnung des Knochenmarks erfolgte durch routinemäßige
Sternalpunktion verschiedener Patienten mit unterschied-
lichen, aber nicht leukämischen Erkrankungen. Die Kulti-
vierung des Knochenmarks wurde nach der Carrel-Deckglas-
kulturmethode, modifiziert nach BOLL (6), durchgeführt.

Das zur Koagulation gebrachte Medium bestand aus

50 % Nativplasma des betreffenden Patienten

40 % Eigenserum

10 % Corhormon[®], 3-fach verstärkt, (Fa. Chemiewerke Homburg)

für die Kontrollkulturen bzw. aus

50 % Nativplasma des betreffenden Patienten

40 % fraktioniertes D-3- bzw. G-3-Serum

10 % Corhormon[®], 3-fach verstärkt

für die Zusatzkulturen.

Nach Aufbringen eines Knochenmarkbröckchens auf das Koagulum
im Hohlsliffobjektträger (hängender Tropfen) wurde ein
Serumtröpfchen vom Eigenserum bzw. vom D-3- oder G-3-Serum
aufgesetzt, ein Hartparaffinverschuß und Inkubierung bei
37° C im Brutschrank vorgenommen.

Es wurden Ausstriche sofort nach Sternalpunktion und von den Kulturen mit und ohne Zusätze D-3 und G-3 nach 24, 48 und 72 Std. angefertigt und nach Pappenheim gefärbt.

Es folgte die meanderförmige Abtastung und Zählung der Zellen, insbesondere der Erythro- und Granulocytopoese, in den aufgelockerten Randpartien der Präparate. Aus jedem Präparat wurden laut Empfehlung von BOLL und FUCHS (5) 2 000 Zellen ausgezählt, um so eine gleichmäßige Zellverteilung zu garantieren. Insgesamt wurden 79 000 Zellen gezählt, davon ca. 48 000 der weißen, 24 000 der roten Reihe und ca. 7 000 Zellen, bestehend aus Megakaryocyten, Plasmazellen, Reticulumzellen und Lymphocyten.

Die rote Reihe wurde differenziert in:

1. Proerythroblast
2. basophiler Erythroblast
3. polychromatischer Erythroblast
4. oxyphiler Erythroblast
5. reifer Erythroblast

Die weiße Reihe wurde differenziert in:

1. Myeloblast
2. Promyelocyt
3. neutrophiler Myelocyt
4. eosinophiler Myelocyt
5. basophiler Myelocyt
6. Promonocyt
7. Metamyelocyt (Jugendlicher)
8. stabkerniger Granulocyt
9. neutrophiler segmentkerniger Granulocyt
10. eosinophiler segmentkerniger Granulocyt
11. basophiler segmentkerniger Granulocyt
12. Monocyt

Auf Beschreibungen der für die Differenzierung der einzelnen Zellen zugrunde gelegten mikroskopischen Kriterien und Zelleigenschaften möchten wir an dieser Stelle verzichten, sie sind von BOLL und Mitarbeitern (7,8) veröffentlicht.

ERGEBNISSE

Es wurde das Knochenmark von 5 Patienten untersucht. Eine Auswahl wurde nur insofern vorgenommen, als genügend Material für Parallelansätze zur Verfügung stehen mußte. Nach Sternalpunktion und Anfertigung der Ausstrichpräparate in der schon ausführlich geschilderten Weise wurden pro Stichprobe 2 000 Zellen, pro Versuch insgesamt 14 000 Zellen ausgezählt. Dabei entfielen auf die ersten beiden Patienten die Zusätze D-3, auf den dritten Patienten die Zusätze D-3 und G-3 (bei einer gezählten Kontrolle) und auf die letzten beiden Patienten die Zusätze G-3, so daß bei 5 Patienten 6 Versuche zur Auswertung gelangten.

Die beiden Patienten mit Banti-Syndrom, deren Seren fraktioniert wurden, hatten zur Zeit der Serumentnahme folgende Blutwerte:

Patient K.D., 55 Jahre, weiblich. (D-3)

Diagnose: splenomegale Markhemmung mit hämorrhagischer Diathese bei chronischer Lebercirrhose.

Blutbild vom 29.9.70

Erythrocyten	4,28 Mill/mm ³
Hb	14,1 g %
HbE	32,8 pg
Leukocyten	4 600/mm ³
Eosinoph.	2 %
Segmentk.	50 %
Lymphoc.	44 %
Mnec.	4 %
Thromboc.	26 000/mm ³
BSG	9/18
Eisenspiegel	220 µg %

Elektrophorese (Serum)

Normalwerte	rel. %
A 40-50	30,8
α ₁ 3-9	8,8
α ₂ 8-12	14,0
β 12-18	12,4
γ 22-26	34,0
Ei-	
weiß 6,6 - 8,2 g %	6,86 g %

Patient K.G., 75 Jahre, weiblich. (G-3)

Diagnose: Milztumor

Blutbild vom 8.6.70

Erythrocyten	4,18 Mill/mm ³
Hb	12,6 g %
HbE	30,0 pg
Leukocyten	4 800/mm ³
Eosinophile	2 %
Stabkernige	1 %
Segmentkernige	44 %
Lymphocyten	48 %
Monocyten	5 %
Thrombocyten	158 000/mm ³
Eisenspiegel im Serum	107,9 µg %

Fall 1: Patient A.P., 49 Jahre, männlich.

Diagnose: Verdacht auf toxische Markschädigung.

Stationäre Einweisung wegen Kollaps aufgrund einer Intoxikation mit Trichloräthylen-Lösungsdämpfen nach einer Arbeit mit Kautschuklack

Peripheres Blutbild bei der Aufnahme am 28.1.71:

Hb	10,1 g %
Erythrocyten	2,96 Mill/mm ³
HbE	33,6 pg
Leukocyten	10 600/mm ³
Eosinophile	3 %
Segmentkernige	65 %
Lymphocyten	28 %
Monocyten	4 %
Thrombocyten	70 000/mm ³
BSG	23/50
Eisenspiegel im Serum	72 µg %

Fall 2: Patient E.G., 53 Jahre, weiblich.

Diagnose: Verdacht auf unbehandelte perniciöse Anämie.

Die Patientin war in ambulanter Behandlung.

Blutbild vom 15.2.71

Erythrocyten	4,0 Mill/mm ³
Hb	13,9 g %
Hb _E	34,8 pg
Leukocyten	8 100/mm ³
Eosinophile	3 %
Stabkernige	1 %
Segmentkernige	69 %
Lymphocyten	24 %
Monocyten	3 %
Thrombocyten	240 000/mm ³
BSG	30/56
Eisenspiegel im Serum	124 µg %

Fall 3: Patient F.B., 82 Jahre, weiblich.

Fall 4: Diagnose: Beginnendes Plasmocytom.

Stationäre Einweisung mit einer stark beschleunigten
BSG 108/143 und einer Anämie.

Medikation zur Zeit der Sternalpunktion:

Kobalt-Ferrlecit[®] 80 mg/d i.v.

Blutbild

Elektrophorese

(Serum)

Erythrocyten	2,52 Mill/mm ³	Normalwerte	rel. %
Hb	6,2 g %	A	54,4 - 69,9
Hb _E	24,5 pg	α ₁	1,2 - 5,1
Leukocyten	8 200/mm ³	α ₂	4,5 - 10,8
Eosinophile	1 %	β	8,1 - 12,9
Segmentkernige	84 %	γ	9,9 - 19,5
Lymphocyten	9 %		25,20
Monocyten	6 %	Ei-	
Thrombocyten	472 000/mm ³	weiß	6,6 - 8,2 g %
Eisenspiegel	52,3 ug %		5,32 g
im Serum			

Immunelektrophorese

γ-A-Paraproteinämie wie bei Plasmocytom mit sekundärer Verminderung der Immunglobuline IgM und IgG und der Albumine. Hiermit wurde die Diagnose eines γ-A-Plasmocytoms gesichert.

Fall 5: Patient W.T., 27 Jahre, männlich.

Diagnose der Sternalpunktion: Normaler Knochenmarkbefund.
Stationäre Einweisung erfolgte wegen Hypertonus,
außerdem bestand Alkoholabusus.

Blutbild

Hämatokrit	47 %
Erythrocyten	5,1 Mill/mm ³
Hb	15,4 g %
HbE	30,2 pg
Leukocyten	10 300/mm ³
Basophile	2 %
Eosinophile	1 %
Stabkernige	5 %
Segmentkernige	69 %
Lymphocyten	18 %
Monocyten	5 %
Thrombocyten	190 000/mm ³
BSG	3/13

Medikation: Distraneurin [®]

Fall 6: Patient R.Th., 31 Jahre, männlich.

Diagnose: Verdacht auf Thalassaemia minor.
Die Hämoglobinanalyse bestätigte die Diagnose
durch vermehrte HbA₂ (6,7 % statt 3 %).

Blutbild

Erythrocyten	4,9 Mill/mm ³
Hb	12,2 g %
HbE	24,7 pg
Leukocyten	7 700/mm ³
Eosinophile	5 %
Basophile	2 %
Segmentkernige	55 %
Monocyten	1 %
Lymphocyten	37 %
Thrombocyten	178 000/mm ³
BSG	2/2
Eisenspiegel im Serum	190 µg %

Der Patient war in ambulanter Behandlung und hatte
keine Medikation zur Zeit der Sternalpunktion.

Die Mitoseindices der Zusatzkulturen (Tab. A u. B)

zeigten sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulocytopoese keine einheitlich deutliche Unterscheidung zu den Werten der Kontrollkulturen.

In der Erythropoese war im Fall 1 der 24-Std.-Wert der Zusatzkultur erniedrigt, die 48 und 72-Std.-Werte waren deutlich erhöht. Im Fall 2 trat eine starke Erhöhung des 24-Std.-Wertes und im Fall 3 u. 4 eine deutliche Steigerung des 24 und 48-Std.-Wertes hervor. Im Fall 5 u. 6 konnten in den Zusatzkulturen keine Mitosen gezählt werden. Das arithmetische Mittel aller Werte zeigt insgesamt eine Erhöhung der Mitoseindices in den Zusatzkulturen. Bei Aufteilung in die beiden Fraktionen bewirkte D-3 eine Erhöhung, G-3 eine Erniedrigung des roten Mitoseindex. Eine signifikante Unterscheidung ließ sich aber auch durch diese Aufteilung für keine der beiden Fraktionen ermitteln.

In der Granulocytopoese waren die 24-Std.-Werte der Zusatzkulturen bis auf Fall 1 und 2 erhöht, ebenfalls die 48-Std.-Werte bis auf Fall 6. Die 72-Std.-Werte lagen insgesamt niedriger mit Ausnahme des Falles 6. Die Mittelung der Werte der Zusatzkulturen ergab eine geringfügige Erhöhung der 24 und 48-Std.-Werte gegenüber den Kontrollwerten, die 72-Std.-Werte waren erniedrigt. Bei Trennung der Werte der D-3- und G-3-Zusätze allerdings zeigte letzterer nach 24 Std. einen doppelt so hohen Mitoseindex wie ersterer.

Da bei 79 000 differenzierten Zellen nur 60 rote und 237 weiße Mitosen registriert werden konnten, wurde nur eine Darstellung (Abb. 1) und die Signifikanzberechnung von der Summe aller Fälle angefertigt (Tab. E,F). Außerdem wurden die Kurven auf Stetigkeit überprüft zur Kontrolle, ob eine Signifikanzberechnung von der Summe aller Werte überhaupt zulässig war (Tab. C,D).

Insgesamt bestätigte die rechnerische Überprüfung die Beurteilung der Einzelwerte. Sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulocytopoese ergaben sich zwischen

Zusatz- und Kontrollkulturen keine signifikanten Unterschiede der Mitoseindices, d.h. eine signifikante Veränderung der Mitose-tätigkeit wurde nicht festgestellt.

In den folgenden Berechnungen und graphischen Darstellungen sind nachstehend aufgeführte Abkürzungen der einzelnen Zellarten benutzt worden:

Proerythroblasten	= PE	Myeloblasten	= Mb
basophile Erythroblasten	= bE	Promyelocyten	= Pr
polychrom. Erythroblasten	= pE	Myelocyten	= My
oxyphile Erythroblasten	= oE	eos.Myelocyten	= eMy
reife Erythroblasten	= rE	Promonocyten	= Pmo
		Metamyelocyten	= MM
		Stabkernige	= St
		Segmentkernige	= Se
		eos.Segmentkernige	= eSe
		Monocyten	= Mz

———— = Kontrollkulturen, ----- = Zusatzkulturen.

Abkürzungen für die einzelnen Mitosephasen:

Prophasen	= P
frühe Metaphasen	= fM
späte Metaphasen	= sM
Anaphasen	= A
Telophasen	= T
Rekonstruktionsphasen	= R

TABELLE A

Mitose-Indices der Erythropoese in % angegeben:

	Original- präparat	Kontrollen			Zusätze		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall 1	34,2	9,0	1,6	5,8	6,1	7,0	14,3
Fall 2	2,4	6,3	14,8	2,2	20,3	14,2	0
Fall 3	14,0	0	5,5	0	5,0	11,0	-
Arithmeti- sches Mittel D-3	16,9	5,1	7,3	2,7	10,5	10,7	7,2
Fall 4	14,0	0	5,5	0	4,5	0	0
Fall 5	13,0	2,3	4,1	0	0	0	-
Fall 6	26,2	2,3	1,6	0	0	0	0
Arithmeti- sches Mittel G-3	17,7	1,5	3,7	0	1,5	0	0
Arithmeti- sches Mittel D-3, G-3	17,3	3,3	5,5	1,3	6,0	5,4	3,6

TABELLE B

Mitose-Indices der Granulocytopoese in % angegeben:

	Original- präparat	Kontrollen			Zusätze		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall 1	29,3	14,7	4,0	2,8	8,5	5,5	1,2
Fall 2	10,7	7,7	0	11,7	5,8	9,3	6,1
Fall 3	21,6	5,5	11,7	7,2	6,2	10,4	-
Arithmeti- sches Mittel D-3	20,5	9,3	5,2	7,2	6,8	8,4	3,6
Fall 4	21,6	5,5	11,7	7,2	13,8	7,1	2,8
Fall 5	6,6	8,0	10,0	1,0	12,5	12,7	-
Fall 6	14,5	17,6	10,5	2,4	19,5	7,4	5,4
Arithmeti- sches Mittel G-3	14,2	10,4	10,7	3,5	15,3	9,1	4,1
Arithmeti- sches Mittel E-3, G-3	17,3	9,8	7,9	5,4	11,1	8,7	3,9

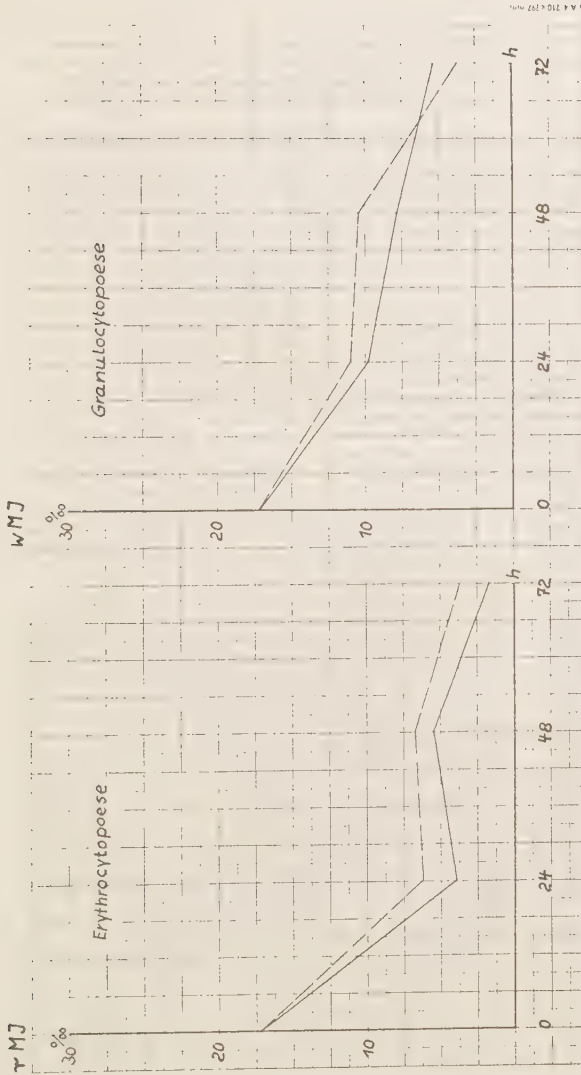


Abb. 1

Mitoseindizes der Erythro- und Granulocytopoese

—— = Kontrollkulturen, - - - - = Zusatzkulturen

(Insgesamt lagen 60 rote und 237 weiße Mitosen den Berechnungen zugrunde)

Abzissen: Zeit in Stunden. Ordinaten: roter Mitoseindex (rMI) bzw. weißer Mitoseindex (wMI). Erklärungen siehe auch S. 5 Ziffer 1).

Die Signifikanzberechnung für die Werte der Mitoseindices und die der Stetigkeit der Kurven wurden mit dem χ^2 -Test nach HELMERT PEARSON durchgeführt. Er fand seine Anwendung ebenfalls bei der Berechnung der Reifungskurven und wird dort ausführlich geschildert.

(Für die Auswertung auf Stetigkeit wurden zwei Freiheitsgrade, für die Auswertung auf Unterschied ein FG berücksichtigt). Die Stetigkeit der Kurven ist statistisch gut gesichert bei $\chi^2 < 13$, der Unterschied der Mitosewerte bei $\chi^2 > 9$).

TABELLE C

Berechnung der Mitoseindices auf Stetigkeit.

Erythropoese: Kontrollwerte

B			E		(B-E) ² /E	
Mitosen	Gesamt-		Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-
	zellzahl			zellzahl		zellzahl
24h	13	2946	13,5	2945,5	0,021	0
48h	11	2407	11,1	2404,9	0	0
72h	7	1419	6,5	1419,4	0,03	0
		Nichtmi-				
		totische				
		Zellen				
31	6741				$\chi^2 = 0,057$	
					=====	

Erythropoese: Zusätze D-3, G-3

B			E		$(B-E)^2/E$	
Mitosen	Gesamt-		Mitosen	Gesamt	Mitosen	Gesamt-
	zellzahl			zellzahl		zellzahl
24h	13	2572	12,9	2572,1	0	0
48h	10	2114	10,6	2113,4	0,034	0
72h	6	1126	5,6	1126,4	0,021	0
		Nichtmi-				
		totische				
		Zellen				
29		5783			$\chi^2 = 0,057$	
					=====	

TABELLE D

Berechnung der Mitoseindices auf Stetigkeit.

Granulocytopoese: Kontrollwerte

		B		E		$(B-E)^2/E$	
		Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-
		zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl
24h	60	4989	50,4	4989,6	1,82	0,02	
48h	41	3195	32,3	3203,7	2,33	0,02	
72h	25	4433	44,5	4413,5	8,56	0,09	
		Nichtmi-					
		totische					
		Zellen					
		126	12491			$\chi^2 = 12,84$	
						=====	

Granulocytopoese: Zusätze D-3, G-3

		B		E		$(B-E)^2/E$	
		Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamtzell-
		zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl
24h	50	4899	38,8	4910,2	3,25	0,03	
48h	47	5829	46,0	5829,9	0,02	0	
72h	14	3438	27,0	3424,9	6,29	0,05	
		Nichtmi-					
		totische					
		Zellen					
		111	14055			$\chi^2 = 9,64$	
						=====	

TABELLE E

Berechnung der Mitoseindices auf Unterschied.

Erythropoese: 24 Std.

	B		E		$(B-E)^2/E$	
	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-
	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl
Kontrolle	13	2946	13,9	2945,1	0,064	0
Zusätze	13	2572	12,2	2572,8	0,055	0
Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 0,119$	
	26	5492			=====	

Erythropoese: 48 Std.

	B		E		$(B-E)^2/E$	
	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-
	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl
Kontrolle	11	2407	11,2	2406,8	0,005	0
Zusätze	10	2114	9,9	2114,1	0,001	0
Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 0,006$	
	21	4500			=====	

Erythropoese: 72 Std.

	B		E		$(B-E)^2/E$	
	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-	Mitosen	Gesamt-
	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl	zellzahl
Kontrolle	7	1419	7,3	1418,7	0,011	0
Zusätze	6	1126	5,8	1126,2	0,008	0
Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 0,019$	
	13	2532			=====	

TABELLE F

Berechnung der Mitoseindices auf Unterschied.

Granulocytopoese: 24 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	60	4989	56,2	4992,8	0,26	0
Zusätze	50	4899	55,1	4893,9	0,46	0
	Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 0,73$
	110	9778				=====

Granulocytopoese: 48 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	41	3195	31,6	3204,4	2,83	0,03
Zusätze	47	5829	57,3	5818,7	1,85	0,02
	Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 4,72$
	88	8936				=====

Granulocytopoese: 72 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	25	4433	22,1	4435,9	0,38	0
Zusätze	14	3438	17,1	3434,9	0,56	0
	Nichtmit.Z.					$\chi^2 = 0,95$
	39	7872				=====

Die Ergebnisse der Differentialzählung der roten und weißen Reihe sind in den Tabellen G und H wiedergegeben. Die daraus angefertigten Reifungskurven (Abb. 2-7) lassen folgendes erkennen:

In der Erythropoese ist eine stark ausgeprägte Reifungsförderung nachweisbar. Nach Zusetzen der Fraktionen D-3 bzw. G-3 kommt es zu einem deutlichen, fast kontinuierlichen Absinken der unreifen Vorstufen (Proerythroblasten, basophile Erythroblasten, ebenso wie die polychromatischen Erythroblasten bis auf Fall 6). Im Fall 1,3 und 4 ist nach 24 Std. besonders deutlich die Ausreifung zum oxyphilen und reifen Erythroblasten gefördert. Im Fall 2,5 und 6 wird die Reifungsförderung noch deutlicher, die Ausreifung erfolgt fast ausschließlich zugunsten der reifen Erythroblasten und ist im Fall 3 schon nach 48 Std. so gut wie vollständig. Die Reifungsförderung tritt insgesamt nach 48 Std. gemildert auf, in den Fällen 4,5 und 6 ist eine Zunahme der oxyphilen Erythroblasten zu vermerken, im Fall 2 sogar bis zu 72 Std. (Abb. 2-7)

Eine Signifikanzberechnung wurde wegen der Heterogenität der Patienten und der damit verbundenen Fehlerquellen statistischer Aussagen von den Werten eines jeden Patienten einzeln durchgeführt. Hier erwiesen sich die Veränderungen der Zusatzkulturen nach 24,48 und 72 Std. als hochsignifikant und bestätigten damit die graphischen Aussagen. (Tabelle K)

In der Granulocytopoese fällt insbesondere das unterschiedliche Verhalten der Kurven der beiden Zusatzkulturen D-3 und G-3 auf. Im Fall 1 (Abb. 2) findet man eine kontinuierlich über 24,48 und 72 Std. verlaufende Rechtsverschiebung mit entsprechender Vermehrung der Myelocyten, die im Fall 2 erst nach 48 Std. in Erscheinung tritt. Im Fall 3 ist die Vermehrung zu den Stab- und Segmentkernigen zugunsten der Metamyelocyten geringfügig

gehemmt.

Im Fall 4,5 und 6 (Zusatz G-3) (Abb. 5,6 und 7) tritt das Absinken der Promyelocytenzahl (unreife Vorstufen) am deutlichsten auf, sämtliche Kurven der Zusatzkulturen sind zu den Kurven der Kontrollkulturen linksverlagert. Auffällig ist besonders die fehlende deutliche Rechtsverlagerung der Zusatzkurven, die bei einer derartig verstärkten Mitosehäufigkeit am ersten Kulturtag vorhanden sein müßte (6).

Fehlende Linksverschiebung bei gleichzeitig verstärkter Mitosetätigkeit und ein Nichterreichen der Differentialverteilung des Originalausstriches nach 72 Std. machen geneigt, auch diese 3 Fälle im Sinne einer Reifungsverzögerung zu interpretieren.

Es wurden deshalb die Mitosen der 24-Std.-Kulturen der Granulocytopoese noch einmal einzeln für jeden Patienten auf Signifikanz überprüft. Das Ergebnis wich nicht ab von dem der Berechnung der Gesamtmitosehäufigkeit; diese, scheinbar starke Erhöhung der weißen Mitoseindices nach einem Kulturtag läßt sich statistisch nicht einwandfrei sichern. Da auch die Vermehrung der späten Metaphasen (Abb.8) durch die Zellen des Zusatzes G-3 hervorgerufen wird (Tab. N: 36 Zellen G-3 zu 20 Zellen D-3), muß die Mitoseindexerhöhung im Sinne einer Mitosehemmung erklärt werden. Wir sind deswegen geneigt, trotz Linksverlagerung der Kurven der Zusatzkulturen zu den Kontrollkulturen bei den Fällen 4,5 und 6 eine Reifungshemmung anzunehmen. Ähnliches Verhalten kommt vor bei chronischer myeloischer Leukämie und perniziöser Anämie mit nachgewiesener Reifungsverzögerung (9).

Die Signifikanzberechnung der Einzelwerte aller Patienten für den Unterschied zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen ergab signifikante 24,48 und 72-Std.-Werte. (Tabelle L)

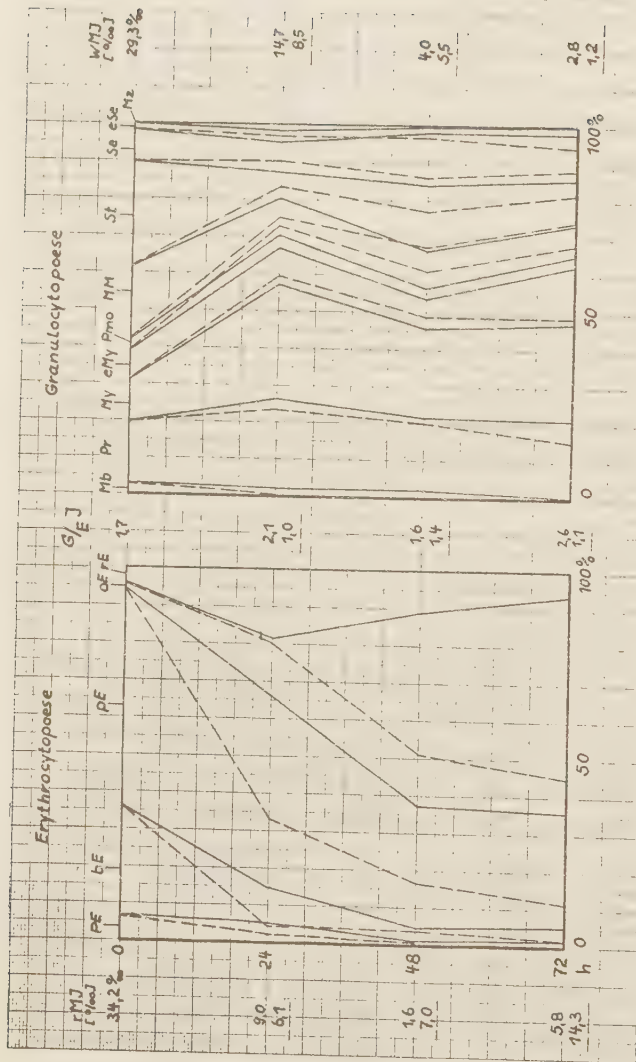


Abb. 2

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopoese: Fall 1

Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten getrennt für Erythrocytopenese und Granulocytopoese.

Ordinaten: Zeit in Stunden.

Erklärungen siehe auch S. 5 Ziffer 2), Abkürzungen siehe S. 13.

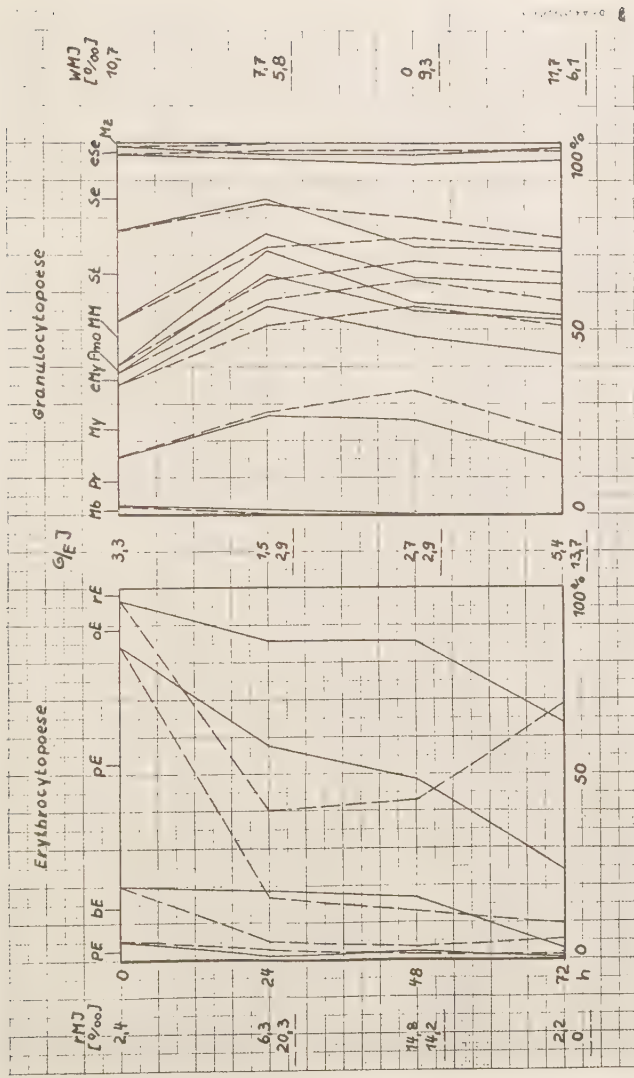


Abb. 3

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopenese: Fall 2
Abszissen, Ordinaten, Erklärungen und Abkürzungen siehe S. 22 Legende zu Abb. 2.

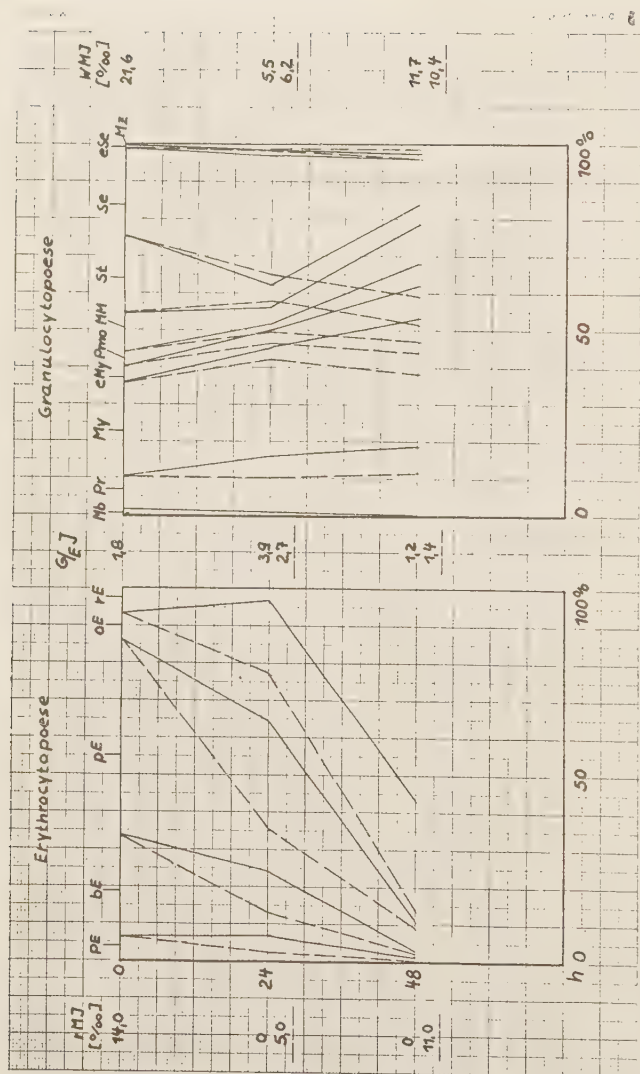


Abb. 4

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopoese: Fall 3

Abszissen, Ordinaten, Erklärungen und Abkürzungen siehe S. 22 Legende zu Abb. 2.

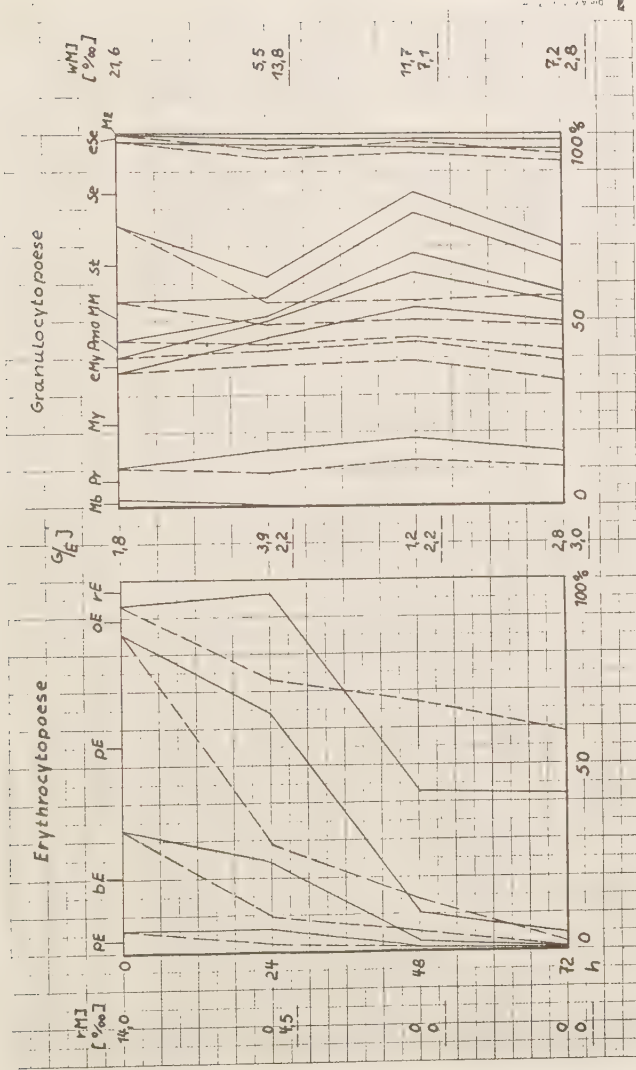


Abb. 5

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopenie: Fall 4

Abzissen, Ordinaten, Erklärungen und Abkürzungen siehe S. 22 Legende zu Abb. 2.

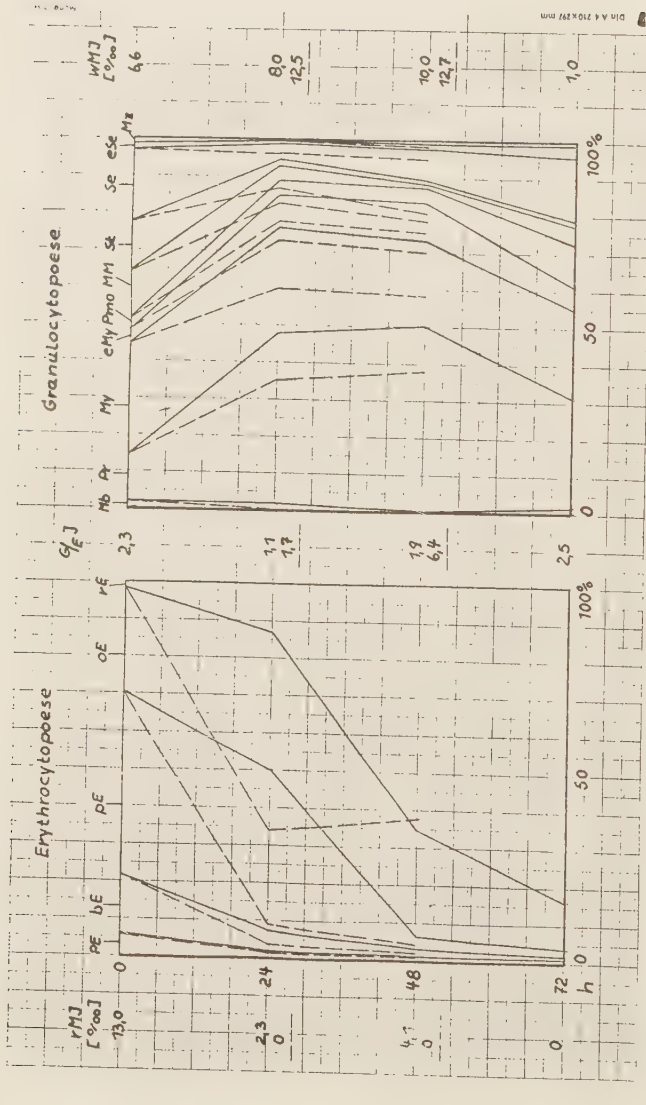


Abb. 6

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopenie: Fall 5

Abszissen, Ordinaten, Erklärungen und Abkürzungen siehe S. 22 Legende zu Abb. 2.

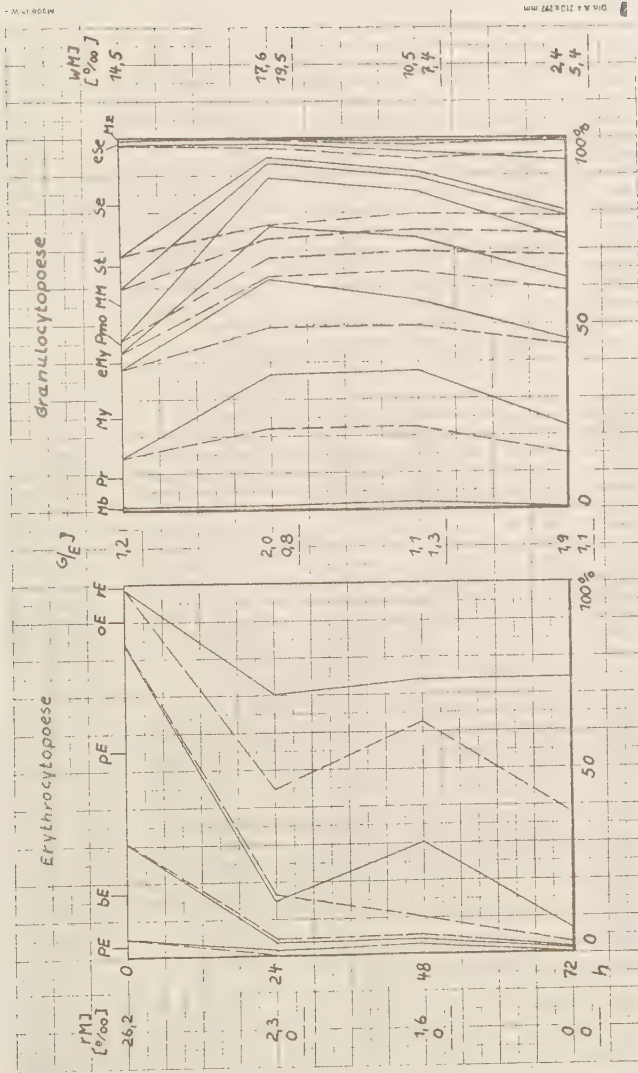


Abb. 7

Reifungskurven der Erythro- und Granulocytopenie: Fall 6

Abzissen, Ordinaten, Erklärungen und Abkürzungen siehe S. 22 Legende zu Abb. 2.

TABELLE G

Ergebnisse der Differentialzählung aller Patienten
in der Erythropoese.

Originalpräparate:

	<u>PE</u>	<u>bE</u>	<u>pE</u>	<u>oE</u>	<u>rE</u>
Fall 1	23	108	215	5	17
Fall 2	20	65	282	48	17
Fall 3	45	205	391	71	39
Fall 4	45	205	391	71	39
Fall 5	32	96	309	178	6
Fall 6	39	231	481	130	16

Kontrollkulturen 24 Std.

Fall 1	25	61	320	149	60
Fall 2	5	145	314	231	117
Fall 3	28	74	164	132	14
Fall 4	28	74	164	132	14
Fall 5	12	56	423	370	141
Fall 6	6	12	72	347	188

Kontrollkulturen 48 Std.

Fall 1	3	25	229	361	84
Fall 2	8	66	154	176	72
Fall 3	3	2	28	148	246
Fall 4	3	8	73	250	449
Fall 5	8	6	26	202	470
Fall 6	20	11	220	377	227

Kontrollkulturen 72 Std.

Fall 1	8	21	174	318	39
Fall 2	2	5	63	115	109
Fall 3	1	-	6	90	207
Fall 4	1	-	6	90	207
Fall 5	2	3	8	71	442
Fall 6	1	6	27	398	154

Fortsetzung TABELLE G

Zusätze D-3 und G-3: 24 Std.

	<u>PE</u>	<u>bE</u>	<u>pE</u>	<u>oE</u>	<u>rE</u>
Fall 1	13	27	297	486	208
Fall 2	11	10	60	116	304
Fall 3	7	57	118	214	123
Fall 4	12	44	121	268	163
Fall 5	10	10	37	170	456
Fall 6	5	33	143	303	602

Zusätze D-3 und G-3: 48 Std.

Fall 1	4	27	108	303	428
Fall 2	5	8	48	150	281
Fall 3	2	26	46	197	342
	-	9	61	110	639
Fall 4	8	23	55	348	213
Fall 5	2	1	4	77	139
Fall 6	5	22	38	371	269

Zusätze D-3 und G-3: 72 Std.

Fall 1	3	11	87	319	525
Fall 2	2	4	5	72	37
Fall 3	-	-	-	-	-
Fall 4	-	1	8	281	209
Fall 5	-	-	-	-	-
Fall 6	-	12	11	310	567

Im Fall 3, 48 Std., gelangten zwei verschiedene Stichproben zur Auswertung.

TABELLE H

Ergebnisse der Differentialzählung aller Patienten
in der Granulocytopoese.

Originalpräparate:

	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Se	eSe	Mz
Fall 1	12	105	69	51	13	126	173	56	11	-
Fall 2	29	188	286	40	15	188	348	279	27	16
Fall 3	13	117	355	64	43	145	271	322	19	-
Fall 4	13	117	355	64	43	145	271	322	19	-
Fall 5	16	189	422	64	24	188	175	271	27	21
Fall 6	3	137	260	41	30	149	95	319	16	1

Kontrollkulturen 24 Std.

	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Se	eSe	Mz
Fall 1	16	303	402	126	44	128	84	107	29	21
Fall 2	14	308	356	102	76	57	115	127	16	44
Fall 3	3	264	484	65	19	88	82	562	39	10
Fall 4	3	264	484	65	19	88	82	562	39	10
Fall 5	9	508	314	80	46	42	8	55	7	14
Fall 6	12	436	321	169	142	50	15	72	22	-

Kontrollkulturen 48 Std.

	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Se	eSe	Mz
Fall 1	8	225	274	95	27	119	202	160	27	2
Fall 2	3	318	289	86	25	85	111	284	45	36
Fall 3	-	219	524	46	33	109	64	580	36	6
Fall 4	1	181	330	93	50	101	49	124	15	24
Fall 5	6	616	283	128	44	15	5	124	38	4
Fall 6	14	336	184	167	125	32	3	65	32	10

Kontrollkulturen 72 Std.

	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Se	eSe	Mz
Fall 1	-	296	380	219	44	123	171	181	40	-
Fall 2	1	210	457	150	17	133	134	389	68	22
Fall 3	1	121	300	44	13	72	33	242	23	12
Fall 4	1	121	300	44	13	72	33	242	23	12
Fall 5	14	384	312	86	149	62	22	226	47	4
Fall 6	2	233	251	178	112	64	12	160	58	9

Fortsetzung TABELLE H

Zusätze D-3 und G-3: 24 Std.

	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Se	eSe	Mz
Fall 1	4	226	360	136	23	80	74	72	33	-
Fall 2	2	390	334	100	81	124	164	198	43	2
Fall 3	5	134	451	59	45	113	112	478	23	-
Fall 4	5	109	392	51	15	74	79	520	34	58
Fall 5	4	408	284	155	56	58	48	122	43	7
Fall 6	5	180	230	116	47	38	25	185	20	7

Zusätze D-3 und G-3: 48 Std.

Fall 1	1	228	341	149	72	123	105	134	43	-
Fall 2	2	471	328	110	73	87	84	262	38	-
Fall 3	3	178	379	103	57	66	103	422	32	41
	2	126	298	61	37	52	80	418	22	22
Fall 4	1	167	387	67	10	73	79	568	40	39
Fall 5	6	527	285	167	76	37	30	212	62	16
Fall 6	3	196	248	131	43	52	41	134	43	19

Zusätze D-3 und G-3: 72 Std.

Fall 1	1	146	342	200	63	73	71	59	69	-
Fall 2	3	342	503	85	126	100	47	399	34	-
Fall 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fall 4	1	151	349	71	48	98	123	535	25	87
Fall 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fall 6	1	147	292	143	92	60	48	179	35	5

Im Fall 3, 48 Std., gelangten zwei verschiedene Stichproben zur Auswertung.

Die Signifikanzberechnung für die Werte der Reifungskurven, ebenso wie die für die der Mitosen, wurde mit dem χ^2 -Verfahren nach HELMERT PEARSON durchgeführt.

Die Ermittlung der P-Werte erfolgte aus den von PÄTAU konstruierten graphischen Tafeln. Dabei gilt für die Beurteilung von P: Die Differenz zwischen beiden Meßreihen ist statistisch gut gesichert bei $P < 0,0027$.

Für die Erythropoese mit 5 differenzierten Formen der einzelnen Zellen wurden 4 Freiheitsgrade, für die Granulocytopoese mit 10 differenzierten Zellformen wurden 9 Freiheitsgrade berücksichtigt. Die Abweichung der Zusatzwerte ist statistisch gut gesichert bei $\chi^2 > 16,3$ bei 4 FG und $\chi^2 > 25,4$ bei 9 FG.

Die Errechnung erfolgte nach folgenden Formeln:

$$\chi^2 = \sum \frac{(B-E)^2}{E}, \text{ B stellt die beobachteten Zell-}$$

zahlen der Kontroll- und Zusatzkulturen dar, E die entsprechenden Erwartungswerte. Die Erwartungswerte errechnen sich aus:

$E = n \cdot p$, dabei bildet n die Summe der Beobachtungswerte und p die relative Häufigkeit in der vereinigten Stichprobe.

TABELLE K

Erythropoese: Fall 1

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
PE	25	13	14,2	23,8	8,22	4,90
bE	61	27	32,9	55,1	24,05	14,35
pE	320	297	230,5	386,5	34,72	20,71
oE	149	486	237,3	397,7	32,83	19,58
rE	60	208	100,1	167,9	16,09	9,59
	615	1031			$\chi^2 = 185,05$	

48 Std.

PE	3	4	3,1	3,9	0,01	0
bE	25	27	23,2	28,8	0,14	0,11
pE	229	108	150,5	186,5	40,96	33,05
oE	361	303	296,5	367,5	14,02	11,31
rE	84	428	228,6	283,4	91,50	73,83
	702	870			$\chi^2 = 264,93$	

72 Std.

PE	8	3	4,1	6,9	3,73	2,21
bE	21	11	11,9	20,1	6,94	4,12
pE	174	87	97,1	163,9	60,87	36,07
oE	318	319	237,0	399,9	27,66	16,39
rE	39	525	209,9	354,1	139,11	82,43
	560	945			$\chi^2 = 329,54$	

Erythropoese: Fall 2

24 Std.

PE	5	11	9,9	6,1	2,42	3,92
bE	145	10	95,9	59,1	25,19	40,83
pE	314	60	231,3	142,7	29,57	47,93
oE	231	116	214,6	132,4	1,25	2,03
rE	117	304	260,4	160,6	78,94	127,94
	812	501			$\chi^2 = 360,04$	

48 Std.

PE	8	5	6,4	6,6	0,40	0,39
bE	66	8	36,4	37,6	24,09	23,31
pE	154	48	99,3	102,7	30,09	29,11
oE	176	150	160,3	165,7	1,54	1,49
rE	72	281	173,5	179,4	59,45	57,51
	476	492			$\chi^2 = 227,39$	

72 Std.

PE	2	2	2,8	1,2	0,25	0,61
bE	5	4	6,4	2,6	0,30	0,74
pE	63	5	48,3	19,7	4,48	10,98
oE	115	72	132,8	54,2	2,39	5,84
rE	109	37	103,7	42,3	0,27	0,67
	294	120			$\chi^2 = 26,53$	

Fortsetzung TABELLE K

Erythropoese: Fall 3

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
PE	28	7	15,5	19,5	10,11	8,02
bE	74	57	57,9	73,0	4,43	3,51
pE	164	118	124,8	57,2	12,32	9,78
oE	132	214	153,1	192,9	2,91	2,31
rE	14	123	60,6	76,4	35,86	28,47
	412	519				

$$\chi^2 = 117,72$$

48 Std.

PE	3	0	1,5	1,5	1,60	1,53
bE	8	9	8,3	8,7	0,01	0,01
pE	73	61	65,5	68,5	0,86	0,82
oE	250	110	175,9	184,0	31,16	29,79
rE	449	639	531,8	556,2	12,88	12,32
	783	819				

$$\chi^2 = 90,99$$

Erythropoese: Fall 4

24 Std.

PE	28	12	16,2	23,8	8,68	5,88
bE	74	44	47,7	70,3	14,55	9,86
pE	164	121	115,1	169,9	20,76	14,07
oE	132	268	161,6	238,4	5,41	3,67
rE	14	163	71,5	105,5	46,24	31,33
	412	608				

$$\chi^2 = 160,45$$

48 Std.

PE	3	8	6,0	4,9	1,52	1,84
bE	8	23	16,9	14,0	4,74	5,74
pE	73	55	70,1	57,9	0,12	0,15
oE	250	348	327,4	270,6	18,31	22,16
rE	449	213	362,5	399,5	20,65	24,99
	783	647				

$$\chi^2 = 100,23$$

72 Std.

PE	1	0	0,4	0,6	1,02	0,62
bE	0	1	0,4	0,6	0,38	0,23
pE	6	8	5,3	8,7	0,09	0,06
oE	90	281	140,5	230,5	18,12	11,04
rE	207	209	157,5	258,5	15,56	9,48
	304	499				

$$\chi^2 = 56,61$$

Fortsetzung TABELLE K

Erythropoese: Fall 5

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
PE	12	10	13,1	8,9	0,09	0,13
bE	56	10	39,2	26,8	7,15	10,49
pE	423	37	273,5	186,5	81,66	119,79
oE	370	170	321,1	218,9	7,44	10,92
rE	141	456	355,0	241,9	129,01	189,27
	1002	683			$\chi^2 = 555,96$	

48 Std.

PE	8	2	7,6	2,4	0,02	0,06
bE	6	1	5,3	1,7	0,08	0,27
pE	26	4	22,8	7,2	0,44	1,39
oE	202	77	212,5	66,5	0,51	1,64
rE	570	139	539,9	169,1	1,68	5,36
	712	223			$\chi^2 = 11,45$	

Erythropoese: Fall 6

24 Std.

PE	6	5	4,0	6,9	0,98	0,56
bE	12	33	16,4	28,6	1,19	0,69
pE	72	143	78,5	136,5	0,54	0,31
oE	347	303	237,4	412,6	50,56	29,09
rE	188	602	288,6	501,4	35,05	20,17
	625	1086			$\chi^2 = 139,16$	

48 Std.

PE	20	5	13,7	11,3	2,89	3,51
bE	11	22	18,1	14,9	2,78	3,37
pE	220	38	141,4	116,6	43,69	52,98
oE	377	371	409,9	338,0	2,65	3,21
rE	227	269	271,8	224,2	7,39	8,97
	855	705			$\chi^2 = 131,45$	

72 Std.

PE	1	0	0,39	0,6	0,93	0,61
bE	6	12	7,1	10,9	0,17	0,11
pE	27	11	14,9	23,0	9,63	6,27
oE	398	310	279,2	428,8	50,55	32,91
rE	154	567	284,3	436,7	59,74	38,89
	586	900			$\chi^2 = 199,82$	

TABELLE I

Granulocytopoese: Fall 1

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	16	4	11,1	8,9	2,20	2,70
Pr	303	226	293,9	235,1	0,28	0,35
My	402	360	423,3	338,7	1,08	1,34
eMy	126	136	145,6	116,4	2,63	3,28
Pmo	44	23	37,2	29,8	1,23	1,54
MM	128	80	115,6	92,4	1,34	1,68
St	84	74	87,8	70,2	0,16	0,20
Se	107	72	99,4	79,6	0,57	0,72
eSe	29	33	34,4	27,6	0,86	1,08
Mz	21	0	11,7	9,3	7,47	9,33
	1260	1008			$\chi^2 = 39,99$	

48 Std.

Mb	8	1	4,4	4,6	2,97	2,83
Pr	225	228	220,9	232,0	0,07	0,07
My	274	341	229,9	315,0	2,25	2,14
eMy	95	149	119,0	124,9	4,85	4,62
Pmo	27	72	48,3	50,7	9,39	8,94
MM	119	123	118,0	123,9	0,01	0,01
St	202	105	149,8	157,2	18,23	17,36
Se	160	134	143,4	150,6	1,92	1,83
eSe	27	43	34,1	35,9	1,49	1,42
Mz	2	0	0,9	1,0	1,08	1,02
	1139	1196			$\chi^2 = 82,49$	

72 Std.

Mb	0	1	0,6	0,4	0,58	0,83
Pr	296	146	259,3	182,7	5,18	7,35
My	380	342	423,6	298,3	4,49	6,38
eMy	219	200	245,9	173,1	2,93	4,16
Pmo	44	63	62,8	44,2	5,62	7,98
MM	123	73	115,0	80,9	0,56	0,79
St	171	71	141,9	100,0	5,92	8,41
Se	181	59	140,8	99,2	11,46	16,28
eSe	40	69	63,9	45,0	8,97	12,74
Mz	0	0	0	0	0	0
	1454	1024			$\chi^2 = 110,67$	

Fortsetzung TABELLE I

Granulocytopoese: Fall 2

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	14	2	7,3	8,7	6,07	5,13
Pr	308	390	319,7	378,3	0,43	0,36
My	356	334	316,0	373,9	5,06	4,28
eMy	102	100	92,5	109,5	0,97	0,82
Pmo	76	81	71,9	85,1	0,23	0,19
MM	57	124	82,9	98,1	8,09	6,83
St	115	164	127,7	151,2	1,28	1,08
Se	127	198	148,8	176,2	3,20	2,71
eSe	16	43	27,0	31,9	4,49	9,79
Mz	44	2	21,1	24,9	24,97	21,09

1215

1438

$$\chi^2 = 101,11$$

48 Std.

Mb	3	2	2,3	2,7	0,18	0,16
Pr	318	471	369,6	419,4	7,19	6,34
My	289	328	289,0	327,9	0	0
eMy	86	110	91,8	104,2	0,37	0,32
Pmo	25	m73	45,9	52,1	9,52	8,39
MM	85	87	80,6	91,4	5,24	0,22
St	111	84	91,3	103,7	4,23	3,73
Se	284	262	255,7	290,3	3,12	2,75
eSe	45	38	38,9	44,1	0,96	0,85
Mz	36	0	16,9	19,1	21,72	19,13

1282

1455

$$\chi^2 = 89,44$$

72 Std.

Mb	1	3	1,9	2,0	0,47	0,46
Pr	210	342	271,0	280,9	13,74	13,26
My	457	503	471,4	488,6	0,44	0,42
eMy	150	85	115,4	119,6	10,39	10,02
Pmo	17	126	70,2	72,8	40,33	38,90
MM	133	100	114,4	118,6	3,02	2,92
St	134	47	88,9	92,1	22,92	22,11
Se	389	399	386,9	401,1	0,01	0,01
eSe	68	34	50,1	51,9	6,41	6,18
Mz	22	0	10,8	11,2	11,61	11,19

1581

1639

$$\chi^2 = 214,81$$

Fortsetzung TABELLE L

Granulocytopoese: Fall 3

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	3	5	4,3	3,7	0,37	0,42
Pr	264	134	211,8	186,2	12,84	14,61
My	484	451	497,7	437,3	0,38	0,43
eMy	65	59	66,0	57,9	0,02	0,02
Pmo	19	45	34,1	29,9	6,66	7,58
MM	88	113	106,9	94,0	3,37	3,84
St	82	112	103,3	90,7	4,38	4,98
Se	562	478	553,6	486,4	0,13	0,15
eSe	39	23	33,0	28,9	1,09	1,24
Mz	10	0	5,3	4,7	4,11	4,68
	1616	1420			$\chi^2 = 71,29$	

48 Std.

Mb	1	2	1,4	1,6	0,11	0,10
Pr	181	126	142,5	164,5	10,42	9,03
My	330	298	291,4	336,6	5,11	4,42
eMy	93	61	71,5	82,5	6,49	5,62
Pmo	50	37	40,4	46,6	2,30	2,00
MM	101	52	71,0	82,0	12,68	10,98
St	49	80	59,9	69,1	2,00	1,70
Se	124	418	251,5	290,5	64,65	55,97
eSe	15	22	17,2	19,8	0,27	0,24
Mz	24	22	21,3	24,7	0,33	0,29
	968	1018			$\chi^2 = 194,66$	

Fortsetzung TABELLE L

Granulocytopoese: Fall 4

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	3	5	4,4	3,6	0,43	0,52
Pr	264	109	204,1	168,9	17,57	21,23
My	484	392	479,4	396,6	0,04	0,05
eMy	65	51	63,5	52,5	0,04	0,04
Pmo	19	15	18,6	15,4	0,01	0,01
MM	88	74	88,7	73,3	0	0,01
St	82	79	88,1	72,9	0,42	0,51
Se	562	520	592,1	489,9	1,53	1,85
eSe	39	34	39,9	33,1	0,02	0,03
Mz	10	58	37,2	30,8	19,90	24,05
	1616	1337			$\chi^2 = 88,28$	

48 Std.

Mb	1	1	0,8	1,2	0,05	0,03
Pr	181	167	140,4	207,6	11,73	7,93
My	330	387	289,3	427,7	5,72	3,87
eMy	93	67	64,6	95,4	12,53	8,47
Pmo	50	10	24,2	35,8	27,47	18,58
MM	101	73	70,2	103,8	13,50	9,13
St	49	79	51,6	76,4	0,14	0,09
Se	124	568	279,2	412,8	86,29	58,37
eSe	15	40	22,2	32,8	2,33	1,58
Mz	24	39	25,4	37,6	0,08	0,05
	968	1431			$\chi^2 = 267,96$	

72 Std.

Mb	1	1	0,7	1,3	0,10	0,06
Pr	121	151	99,7	172,3	4,55	2,63
My	300	349	237,9	411,1	16,22	9,39
eMy	44	71	42,2	72,8	0,08	0,05
Pmo	13	48	22,4	38,6	3,92	2,97
MM	72	98	62,3	107,7	1,51	0,87
St	33	123	57,2	98,8	10,23	5,92
Se	242	535	284,8	192,2	6,43	3,72
eSe	23	25	17,6	30,4	1,66	0,96
Mz	12	87	36,3	62,7	16,26	9,41
	861	1488			$\chi^2 = 96,21$	

Fortsetzung TABELLE I

Granulocytopoese: Fall 5

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	9	4	6,2	6,8	1,26	1,15
Pr	508	408	437,4	478,6	11,39	10,41
My	314	284	285,6	312,4	1,83	2,59
eMy	80	155	112,2	122,8	9,25	8,45
Pmo	46	56	48,7	53,3	0,15	0,14
MM	42	58	47,8	52,2	0,69	0,63
St	8	48	26,7	29,3	13,13	12,00
Se	55	122	84,5	92,5	10,31	9,42
eSe	7	43	23,9	26,1	11,93	10,90
Mz	14	7	10,0	11,0	1,57	1,44

1083

1185

$$\chi^2 = 119,66$$

48 Std.

Mb	6	6	5,6	6,3	0,02	0,02
Pr	616	527	537,7	603,6	11,42	9,73
My	283	285	267,2	299,9	0,94	0,75
eMy	128	167	138,8	155,8	0,84	0,81
Pmo	44	76	56,4	63,4	2,74	2,52
MM	15	37	24,5	27,5	3,66	3,31
St	5	30	16,5	18,5	7,98	7,17
Se	124	212	158,1	177,4	7,34	6,73
eSe	38	62	47,0	52,8	1,74	1,60
Mz	4	16	9,4	10,6	3,11	2,79

1263

1418

$$\chi^2 = 75,21$$

Fortsetzung TABELLE I

Granulocytopoese: Fall 6

24 Std.

Zell- typ	B		E		(B-E) ² /E	
	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
Mb	12	5	10,1	6,9	0,37	0,54
Pr	436	180	364,8	251,2	13,88	20,17
My	321	230	326,3	224,7	0,09	0,13
eMy	169	116	168,8	116,2	0	0
Pmo	142	47	111,9	77,1	8,07	11,73
MM	50	38	52,1	35,9	0,09	0,13
St	15	25	23,7	16,3	3,19	4,63
Se	72	185	152,2	104,8	42,27	61,40
eSe	22	20	24,9	17,1	0,33	0,48
Mz	0	7	4,1	2,9	4,15	6,02
	1239	853			$\chi^2 = 177,65$	

48 Std.

Mb	14	3	8,8	8,2	3,13	3,33
Pr	336	196	274,2	257,8	13,92	14,81
My	184	248	222,7	209,3	6,72	7,14
eMy	167	131	153,6	144,4	1,17	1,24
Pmo	125	43	86,6	81,4	17,03	18,12
MM	32	52	43,3	40,7	2,95	3,14
St	3	41	22,7	21,3	17,08	18,16
Se	65	134	102,6	96,4	13,76	14,64
eSe	32	43	38,7	36,3	1,15	1,22
Mz	10	19	14,9	14,1	1,64	1,74
	968	910			$\chi^2 = 162,09$	

72 Std.

Mb	2	1	1,6	1,4	0,13	0,14
Pr	233	147	197,0	183,0	6,57	7,07
My	251	292	281,5	261,5	3,31	3,57
eMy	178	143	166,4	154,6	0,80	0,86
Pmo	112	92	105,8	98,2	0,37	0,39
MM	64	60	64,3	59,7	0	0
St	12	48	39,1	28,9	11,74	12,6
Se	160	179	175,8	163,2	1,41	1,53
eSe	58	35	48,2	44,8	1,98	2,14
Mz	9	5	7,3	6,7	0,42	0,45
	1079	1002			$\chi^2 = 55,52$	

Karyologische Kurven:

Bei der Betrachtung der Veränderungen des Verhältnisses der einzelnen Mitosephasen zueinander nach Hinzufügen der Zusätze D-3 und G-3 schien es uns wegen der relativ geringen Anzahl der Mitosen nicht zweckmäßig, von den einzelnen Patienten karyologische Kurven anzufertigen. Es wurden daher nur Summenkurven der Erythro- und Granulocytopoese über insgesamt 60 rote und 237 weiße Mitosen aufgestellt. (Abb.8) Diese lassen eine durch die Zusätze D-3 und G-3 bewirkte geringe Abnahme der Prophasen in beiden Reihen erkennen.

In der Erythropoese findet sich eine geringe Zunahme der frühen Metaphasen und der Telo- und Rekonstruktionsphasen zu Ungunsten der Anaphasen.

In der Granulocytopoese zeigt sich außer der Prophasenabnahme eine Zunahme der späten Metaphasen.

Die G/E-Indices entsprachen in den Originalausstrichen den zugehörigen Erkrankungen (Tab.N) (8,9). In den Fällen 1,2,3,4 und 6 lagen jeweils Anämien verschiedener Genese vor, so daß die G/E-Indices entsprechend der Reaktion des Knochenmarks erniedrigt waren (Verschiebung zur roten Reihe hin).

In den Kontrollkulturen stiegen sie in den Fällen 1,3,4 und 6 nach 24 Stunden über den Wert der Originalausstriche an, erreichten diese nach 48 Stunden etwa wieder, um nach 72 Stunden erneut anzusteigen. In den Fällen 2 und 5 fielen die Werte nach 24 Stunden, danach stiegen sie bis 72 Stunden über die Werte der Originalausstriche an. Fall 3 zeigte einen Anstieg der 24- und 48-Stunden-Werte.

Die Werte der Zusatzkulturen lagen in 3 Fällen (1,3,6) unter, in den anderen Fällen (2,4,5) über den entsprechenden Werten der Kontrollkulturen, in 4 Fällen (1,2,5,6) aber nach 24 Stunden unter den Originalwerten. Die Mittelwerte zeigten nach 24 Stunden eine Tendenz zur Erniedrigung, später zur Erhöhung gegenüber den Kontrollkulturen entsprechend der verspäteten, aber hochsignifikanten Reifungsförderung der Erythropoese und der Reifungshemmung der Granulocytopoese durch die Zusätze.

TABELLE M

Verteilung der Mitosephasen (ohne Originalausstriche)

Fall	Prophasen						frühe Metaphasen												späte Metaphasen						Anaphasen						Telophasen						Rekonstruktionsphasen					
	E			G			E			G			E			G			E			G			E			G			E			G			E			G		
	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z						
D-3	I	3	3	10	5	0	4	6	3	2	2	4	2	2	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0														
	II	6	2	5	3	3	2	4	6	2	1	4	12	0	0	3	1	0	1	2	0	1	1	1	1	0	1															
	III	0	2	4	3	0	4	9	9	0	2	12	6	1	0	1	0	1	0	2	0	0	1	1	1	2																
G-3	IV		1		3		0		3		1		8		0		2	0										0														
	V	0	0	1	1	2	0	8	7	0	0	9	17	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1															
	VI	0	0	2	0	2	0	15	7	0	0	14	11	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1															
	9	8	22	15	7	10	42	35	4	6	43	56	4	1	5	7	1	4	5	1	2	4	1	5																		

Kontrolle

Mitosen der Erythropoese:

27

Mitosen der Granulocytopoese:

118

Zusätze D-3, G-3

33

Zellen

119

Zellen

G = Granulocytopoese

E = Erythropoese

K = Kontrolle

Z = Zusätze D-3 bzw. G-3.

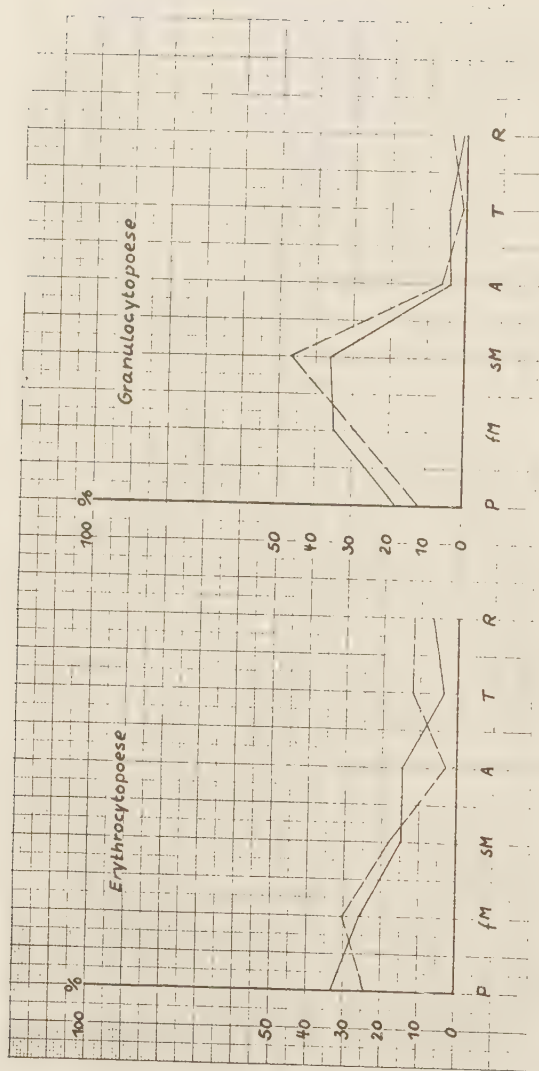


Abb. 8

Karyologische Kurven der Erythro- und Granulocytopenie der Summen aller Patienten
Abszissen: Mitosephasen. Ordinaten: Häufigkeit der Mitosephasen in %.

———— = Kontrollkulturen, - - - - - = Zusatzkulturen
(Insgesamt lagen 60 rote und 237 weiße Mitosen der Auswertung zugrunde)
Erklärungen siehe auch S. 5 Ziffer 3), Abkürzungen siehe S. 13.

TABELLE N

G/E-Indices

	Original- präparat	Kontrollen			Zusätze D-3, G-3		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall 1	1,7	2,1	1,6	2,6	1,0	1,4	1,1
Fall 2	3,3	1,5	2,7	5,4	2,9	2,9	13,7
Fall 3	1,8	3,9	1,2	-	2,7	1,4	-
Fall 4	1,8	3,9	1,2	2,8	2,2	2,2	3,0
Fall 5	2,3	1,1	1,9	2,5	1,7	6,4	-
Fall 6	1,2	2,0	1,1	1,9	0,8	1,3	1,1
Arithmeti- sches Mittel	2,0	2,4	1,6	3,0	1,9	2,6	4,7

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE:

1) Die Mitoseindices der Knochenmarkkulturen mit und ohne Zusatz D-3 bzw. G-3 unterscheiden sich sowohl in der Erythro- als auch Granulocytopoese nur unerheblich voneinander. Eine signifikante Änderung der Mitoseaktivität wurde an allen drei Kulturtagen nicht festgestellt.

2) Die Reifungskurven ließen in allen Fällen eine hochsignifikante Verminderung der unreifen erythroblastischen Vorstufen zugunsten der oxyphilen und reifen Erythroblasten in den Zusatzkulturen erkennen. Es lag eine ausgeprägte Reifungsförderung der Erythropoese vor, die in vier Fällen durch Zunahme der Erythropoese nach dem G/E-Index (G/E-I gefallen) am ersten Kulturtag bestätigt wird, später kommt es als Ausdruck der Ausreifung der Erythropoese zum Anstieg des G/E-Index in drei Fällen.

Auf die Granulocytopoese wirkten beide Zusätze etwas unterschiedlich: der Zusatz D-3 reifungshemmend bei gesenktem Mitoseindex, der Zusatz G-3 dagegen im Sinne einer Reifungshemmung bei erhöhtem Mitoseindex und vermehrten Mitose-Endphasen nach 24 Std.

3) Die karyologischen Kurven der Erythro- und Granulocytopoese ließen eine geringe Abnahme der Prophasen durch die Zusätze erkennen. In der Erythropoese waren frühe Metaphasen und die späten Phasen (Telo- und Rekonstruktionsphasen) wenig vermehrt. Die Anaphasen waren auffällig vermindert. In der Granulocytopoese lag neben der Prophasenverminderung eine Zunahme der späten Metaphasen vor.

4) Die G/E-Indices waren in vier Fällen nach 24 Stunden durch die Zusätze D-3 und G-3 unter die Originalwerte abgesunken, danach war kein synonymes Verhalten zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen festzustellen.

DISKUSSION

Der Einfluß von tierischen und menschlichen Extrakten hypersplener Milzen auf menschliche Knochenmarkkulturen ist von v. ALBERT (1,2) 1962/63 und das Verhalten der Kinetik des Knochenmarks von Patienten mit Milztumoren von BOLL (7) 1970 beschrieben worden. Weiterführend sollen hier nun die Proliferationsänderungen von menschlichen Knochenmarkkulturen nach Applikation von dialysiertem Überstand nach Ammoniumsulfatfällung der Seren von zwei Patienten mit hypersplenischen Milzen erarbeitet werden. Voruntersuchungen (Diss. Schulz) mit diesen, noch nicht fraktionierten Seren bestätigten weitgehend die Ergebnisse von v. ALBERT und die von BOLL in bezug auf die Granulocytopoese und zeigten auf, daß die Wirkung der Seren durch Einfrieren nicht beeinträchtigt wurde.

Der Mitoseindex sowohl der Erythro- wie der Granulocytopoese (Tab. A+B) wird nach Zusetzen unserer Dialysat-Überstände nach Ammoniumsulfatfällung gegenüber den Kontrollkulturen nicht verändert.

Bei den karyologischen Kurven sind die Unterschiede so gering, daß wir aus ihnen weder eine sichere Verzögerung noch Stimulierung des Mitoseablaufes entnehmen können.

Die von Boll untersuchten Kulturen von Knochenmark bei Banti-Syndrom verhielten sich in bezug auf die Regeneration wie normales Knochenmark, d.h. die Mitoseindices der Erythropoese gingen zurück, während die Regeneration der Granulocytopoese bis 48 Stunden fort dauerte. Dagegen erkannte v. Albert eine Regenerationshemmung der Granulocytopoese.

Der G/E-Index zeigt keine einheitliche Veränderung und kann deshalb nur bedingt bei der Ausreifungsbeurteilung der Erythropoese gewertet werden.

In den Reifungskurven lag durch Zusetzen der Serumfraktionen von zwei Patienten mit hypersplenischen Milzen in der Erythropoese in allen Fällen eine hochsignifikante Förderung der Reifung vor, während in der Granulocytopoese die Fraktion des einen Patienten mit Lebercirrhose D-3 erst nach leichter Stimulierung hemmend, die des anderen ohne Leberaffektion G-3 schon nach 24 Std. hemmend wirkte. Vergleichsweise wirkten die nicht fraktionierten Seren derselben Patienten (25) stärker hemmend auf die Granulocytopoese, während sie die Erythropoese nicht beeinflussten.

Das fast entgegengesetzte Verhalten unserer Dialysate auf die Erythropoese zum Gesamtserum, das eine ähnliche Wirkung wie Hyperspleniemilzen auf Knochenmark (v. ALBERT) gezeigt hatte, läßt uns vermuten, daß nicht nur ein Milzfaktor das Knochenmark beeinflusst. Die unter dem Begriff splenogene Markhemmung bekannten Knochenmarkerscheinungen müßten nach unseren Untersuchungen von einer Wirkgruppe ausgelöst werden, die aus Hemmungs- und Aktivierungsfaktoren besteht. Diese Faktoren lassen sich fraktionieren, und damit scheint über die Beurteilung der Kinetik des Knochenmarks in vitro ein Weg zur Darstellung knochenmarkwirksamer Milzfaktoren aufgezeigt zu sein. Die unterschiedliche Beeinflussung der von 2 Patienten gewonnenen Zusätze auf die Granulocytopoese scheint darauf hinzuweisen, daß auch die Retentionsprodukte der Lebercirrhose im Blut (Bilirubin, Fermente und pathologische Globuline) eine Wirkung auf die Granulocytopoese ausüben können. Der Hemmfaktor der Granulocytopoese war beim Zusatz G-3 stärker wirksam als bei D-3. Der die Erythropoese fördernde Faktor wurde in der von uns untersuchten Fraktion bei den Seren beider Patienten erfaßt, nicht jedoch im Gesamt-Serum (25).

ZUSAMMENFASSUNG

Menschlichem Knochenmark wurden in vitro Serumdialysate nach Ammoniumsulfatfällung von zwei Patienten mit hypersplenischen Milzen zugesetzt und nach Anlage von Kulturen bis 72 Std. im Vergleich mit Kulturen ohne diese Zusätze differenziert. In Abständen von einem Tag wurde der Mitoseindex und der G/E-Index aus den Differentialzählungen der Kulturausschläge ermittelt und Reifungskurven und karyologische Kurven angefertigt. Voruntersuchungen mit den nichtfraktionierten Seren derselben Patienten hatten die unter dem Begriff splenogene Markhemmung bekannten Knochenmarkerscheinungen gezeigt.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigt eine erhebliche Reifungsförderung der Erythropoese nach Zusatz der Dialysate nach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung. In der Granulocytopoese wirkte die Fraktion eines Patienten gleich, die des anderen mit Banti-Syndrom bei Lebercirrhose erst nach anfänglicher leichter Stimulierung reifungshemmend.

Nach unseren Ergebnissen wird die Knochenmarkwirkung der Seren bei hypersplenischen Milzen hervorgerufen durch eine humorale Wirkgruppe bestehend aus Hemmungs- und Aktivierungsfaktoren mit unterschiedlicher Beeinflussung der Erythro- und Granulocytopoese.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ALBERT, H.H.v.
Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung
"hypersplener" Milzen.
Blut IX (1963), 405
- 2) ALBERT, H.H.v.
Hemmwirkung eines Extraktes aus einer menschlichen
Hyperspleniemilz in der Knochenmarkkultur.
Klin.Wschr. 40,211, (1962)
- 3) AMMON, R.
Fermente, Hormone, Vitamine Bd.II
G.Thieme-Verlag, Stuttgart (1960)
- 4) BELITZ, H.-J.
Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
Ernst Klett-Verlag, Stuttgart (3/60)
- 5) BOLL, I. und G. FUCHS
Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung
von menschlichem Knochenmark in vitro.
Blut,VII, 257 (1961)
- 6) BOLL, I.
Granulocytopoese unter normalen und pathologischen
Bedingungen.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1966)
- 7) BOLL, I.
Das Knochenmark beim Milztumor und seine Kinetik nach
dem Verhalten in der 3-Tage-Kultur.
Die Milz, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
(1970) Seite 355
- 8) BOLL, I. und G. MERSCH
Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik
der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
Blut XVII, 193 (1968)
- 9) BOLL, I. und G. MERSCH
Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik
der normalen und pathologischen Granulocytopoese in vitro.
Blut XIX, 257, (1969)
- 10) BOCK, H.E. und B. FRENZEL
Splenogene Knochenmarkhemmung (Tierexperimentieller Beweis).
Klin. Wschr. 17 1315 (1938)

- 11) CAVALLI-SFORZA, L.
Biometrie, Grundzüge biologischer medizinischer Statistik.
Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart (1964)
- 12) FRANK, E.
Aleukia splenica. Die splenogene Leukomyelotoxikose-Aleukia haemorrhagica III.
Berl. klin. Wschr. 53 (1916), 555
- 13) HECKNER, F.
Leitfaden der Blutzellkunde.
Urban und Schwarzenberg, München und Berlin (1965)
- 14) Heilmeyer, L.
Lehrbuch der Inneren Medizin.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961)
- 15) HITTMAYER, A. HEILMEYER-HITTMAYER
Handbuch der gesamten Hämatologie, Bd. 5/2.
Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1969)
- 16) ISAAC, S.
Über Anaemia splenica.
Berlin. klin. Wschr. 49 (1912) 1978
- 17) JOMBRES, P.
Zur Frage der Hemmungswirkung der Milz auf das Knochenmark.
Z. ges. exp. Med. 106, 457 (1939)
- 18) KAISER, E. und W. RINDT
Milz und Endokrinium.
Med. Klin. 60, 985-988 (1965)
- 19) LENNERT, K. und HARMS, D.
Die Milz. Struktur, Funktion, Pathologie, Klinik, Therapie.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1970) Seite 419
- 20) PALMER, I.G., I. KEMP, G.E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE
Studies on the Effect of Splenectomy on the Total Leukocyte Count in the Albino Rat.
Blood VI, 3 (1951)
- 21) ROHR, K.
Das menschliche Knochenmark.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart (1960)

- 22) RUHENSTROTH-BAUER, G.
Versuche zum Nachweis eines spezifischen erythropoetischen Hormons.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. path. Pharmak.
211 (1950) 32
- 23) RUHENSTROTH-BAUER, G. und K.H. MAIER
Versuche zum Nachweis eines spezifischen erythropoetischen Hormons.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. path. Pharmak.
214 (1952) 464
- 24) RUHENSTROTH-BAUER, G.
Die Steuerung der Erythrocytenkonzentration im Blut.
Kgr. europ. Ges. Hämat.,
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1956)
- 25) SCHULZ, R.M.
Die Wirkung von Seren bei Splenomegaliepatienten auf die Proliferation von menschlichem Knochenmark in vitro.
Dissertation in Vorbereitung
- 26) STREICHER, H.J.
Chirurgie der Milz
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960)
- 27) STREICHER, H.J. und O.H. SCHMIDT
Die Knochenmarkfunktionsprüfung unter besonderer Berücksichtigung der Milzexstirpation.
Klin. Wschr. 40, 667 (1962)
- 28) TOMODA, M.
Bedingungsreaktion als spezifische Funktion der Milz und ihre klinische Bedeutung.
Ref. aus: Bruns' Beitr. klin. Chir., Bd.190, 222 (1955)
- 29) WEINREICH, J.
Milz und Leber in ihrem Einfluß auf das Blutbild.
Untersuchungsergebnisse zum Problem des "Hypersplenismus"
Acta hepato-splenol.; X, 81 (1963)
-

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Frau Prof. Dr. med. I. Boll danke ich ganz besonders für das Überlassen dieses Dissertations-themas, für die Hilfe bei der Einarbeitung und die ständige Unterstützung und fachliche Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. Ruhenstroth-Bauer, Max-Planck-Institut für Biochemie, München, bin ich für die Fraktionierung der Seren zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. H.-J. Belitz, Genetisches Institut der Freien Universität Berlin, danke ich für die Beratung und ständige Hilfsbereitschaft bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

LEBENS LAUF

Am 16.9.42 geboren in Hamm/Westfalen.

Besuch der Volksschulen in Hamm-Süden und Bünde von 1949 bis 1953; es folgte der Besuch des neusprachlichen Gymnasiums in Bünde bis zum Abgang mit der sog. Mittleren Reife Ostern 1959. Anschließend dreijährige Lehre als Maschinenschlosser.

Nach der Gesellenprüfung 1962 Besuch des Aufbaugymnasiums Bethel/Bielefeld bis zum Abitur 1965. Anschließend zwei Semester Flugtechnik an der Techn. Universität Berlin.

Heirat am 2.4.66. Bis Februar 1967 Tätigkeiten als Schlosser, Monteur und Fahrer.

Zum Sommersemester 1967 Zulassung zum Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin, naturwissenschaftliche Vorprüfung am 11.3.1968, zahnärztliche Vorprüfung am 13.10.1969, zahnärztliches Staatsexamen am 21.7.1972.

